

Вредности оксидисаног *LDL*-холестерола и *C*-реактивног протеина у односу на дебљину зида каротидне артерије код особа с факторима ризика за атеросклерозу

Зорица Чапаревић¹, Нада Костић¹, Сања Илић¹, Јана Радојковић¹, Ђорђе Марина¹, Биљана Пенчић², Иван Радојковић³

¹Одељење ендокринологије, Клиника за интерну медицину, Клиничко-болнички центар

„Др Драгиша Мишовић”, Београд, Србија;

²Одељење кардиологије, Клиника за интерну медицину, Клиничко-болнички центар

„Др Драгиша Мишовић” Београд, Србија;

³Клиничко-болнички центар „Земун”, Београд, Србија

КРАТАК САДРЖАЈ

Увод Оксидисани *LDL*-холестерол (*OxLDL*) је значајан фактор у оболевању од атеросклерозе и њеном убрзаном развоју. Фактори који доприносе настанку атеросклерозе укључују и инфламаторни одговор.

Циљ рада Циљ рада је био да се утврди однос између вредности *OxLDL*, *C*-реактивног протеина (*CRP*) и дебљине интима-медија комплекса (*IMT*) зида каротидне артерије код особа с факторима ризика за атеросклерозу.

Методе рада Испитивање је обухватило 125 клинички здравих особа (75 женског и 50 мушког пола) с повишеним вредностима холестерола, просечне старости од 49,3±5,7 година, и 100 испитаника контролне групе исте старости. Испитаници с повишеним вредностима холестерола су сврстани у две подгрупе према вредностима *LDL*-холестерола: подгрупу А су чинили испитаници код којих је вредност овог параметра била већа од 5 mmol/l, а подгрупу Б испитаници са вредностима мањим од 5 mmol/l. Ниједан испитаник није боловао од цереброваскуларне болести, исхемијске болести срца, хипертензије или шећерне болести. Липиди су мерени ензимским методама, *OxLDL* је мерен помоћу специфичних моноклоналних антитела *mAb4E6*, *CRP* је мерен коришћењем хемилуминисцентних метода (*DPC Im-lumite*), док је *IMT* зида каротидних артерија мерен ултразвуком (Б-мод).

Резултати Код испитаника с повишеним вредностима холестерола су, у поређењу са испитаницима контролне групе, забележене веће вредности *OxLDL* (119,97±43,15 према 82,03±25,99 IU/l; $p<0,01$) и *CRP* (6,20±3,55 према 2,68±3,04 mg/ml; $p<0,05$), док је *IMT* био значајно већи (1,14±0,38 према 0,72±0,24 mm; $p<0,05$). Такође је забележено да код свих испитаника *IMT* позитивно корелира са *OxLDL* ($r=0,442$; $p<0,05$). У подгрупи А утврђена је позитивна корелација између *IMT* са *CRP* ($r=0,792$; $p<0,01$), док је у контролној групи позитивна корелација била између *IMT* и *OxLDL* ($r=0,781$; $p<0,01$), односно *CRP* ($r=0,748$; $p<0,01$).

Закључак Код особа с факторима ризика за атеросклерозу и повишеним нивоом холестерола повишене вредности циркулишућег *OxLDL* и *CRP* повезане су са већим *IMT* каротидне артерије.

Кључне речи: оксидисани *LDL*-холестерол (*OxLDL*); *C*-реактивни протеин (*CRP*); дебљина интима-медија комплекса каротидне артерије; фактори ризика; атеросклероза

УВОД

Кардиоваскуларне болести су најзначајнији и најчешћи узрок смрти у свету. Иако се кардиоваскуларна болест као последица атеросклерозе обично манифестује тек у шестој или седмој деценији живота, постоје особе код којих се развија превремена атеросклероза. Данас се зна да највећи број болесника с атеросклерозом има вишеструке факторе ризика [1].

Међу факторима ризика најзначајнија је хиперхолестеролемија. Конверзија *LDL*-холестерола у оксидисани *LDL*-холестерол (*OxLDL*) је веома важан корак у атерогеном процесу [2-8]. *OxLDL* је директно укључен у прву фазу настанка и развоја атеросклеротске лезије [9-11]. Међутим, механизми којима повишени ниво *OxLDL* утиче на погоршање атеросклерозе нису потпуно разјашњени. Постоји веза између акутног запаљења и повишеног нивоа *OxLDL*, те се може закључити да оксидација *LDL*-холестерола може допринети

настанку кардиоваскуларне болести [12]. Управо акумулација, агрегација и оксидативна модификација *LDL*-честица имају значајну улогу у процесу запаљења [13].

У раним стадијумима настанка атеросклерозе *OxLDL* који је откривен у лезијама зида артерије директно је укључен у претварање артеријских макрофага у пенасте ћелије. *OxLDL* је откривен у макрофагима насталим из моноцита, али не у нормалним артеријама [14, 15]. *OxLDL* је цитотоксичан за ендотелијалне ћелије, чиме омогућава другачији механизам којим оксидисани *LDL*-холестерол доводи до оштећења зида артерије и поспешује атеросклеротски процес. *OxLDL* може иницирати и одржавати стварање инфламаторних медијатора, као што се дешава и са *C*-реактивним протеином (*CRP*). Још, међутим, није познато да ли *CRP* директно доприноси атеросклеротском процесу или његова повишена вредност у серуму посредно погађа друге факторе и процесе, подстицајући на тај начин развој атеросклерозе. Многе студије

показују да *CRP* може директно учествовати у различитим процесима атеросклерозе [16-18].

Према резултатима студије Холвета (*Holvoet*) и сарадника [19], повишена вредност *OxLDL* запажа се код особа с коронарном болешћу. Ови аутори откривају и да концентрације *OxLDL* у плазми могу бити значајно више код болесника са стабилном или нестабилном ангином пекторис, односно акутним инфарктом миокарда, него код здравих особа [20]. Бројне су студије које показују да повишене вредности *OxLDL* могу служити као прогностички показатељ коронарне васкулопатије [21-26]. Ехара (*Ehara*) и сарадници [27] показују повезаност и позитивну корелацију *OxLDL* са тежином акутног коронарног синдрома. Шимада (*Shimada*) и сарадници [28] дају доказе о томе да *OxLDL* може бити независни предиктивни фактор коронарног обољења.

ЦИЉ РАДА

Циљ истраживања је био да се анализирају међусобни односи циркулишућег *OxLDL* и *CRP* код асимптоматских особа с факторима ризика за атеросклерозу, као и њихова повезаност са дебљином интима-медија комплекса (*IMT*) зида каротидне артерије.

МЕТОДЕ РАДА

Испитаници

Испитивање је обухватило 125 особа (75 жена и 50 мушкараца) с факторима ризика за исхемијску болест срца, просечне старости од $49,3 \pm 5,7$ година и просечног индекса телесне масе (*BMI*) од $24,27 \pm 2,52 \text{ kg/m}^2$, и 100 здравих особа (50 жена и 50 мушкараца), просечне старости од $45,1 \pm 8,1$ године и просечног *BMI* од $24,17 \pm 2,25 \text{ kg/m}^2$, који су чинили контролну групу. Сви испитаници лечени су у амбуланти Клинике за ендокринологију и кардиологију Клиничко-болничког центра „Др Драгиша Мишовић” у Београду.

Критеријуми за укључивање у студију били су: „позитивна” породична анамнеза за исхемијску болест срца и повишена вредност укупног холестерола и *LDL*-холестерола. Критеријуми који су искључивали испитанике били су: инфаркт миокарда, ангина пекторис, шлог, интермитентне клаудикације, болест аорте, гојазност, дијабетес и хипертензија. Навика пушења цигарета, као један од фактора ризика, класификована је као: „никад није пушио”, „престао је да пуши”, „пушач је испитаник, односно неко из породице”, „дневно попуши мање или више од 15 цигарета”. Крвни притисак у седећем положају мерен је помоћу живиног сфигмоманометра после пет минута одмора. Систолни (Коротковљева фаза I) и дијастолни притисак мерени су два пута на левој надлактици, а за анализирање је узета просечна вредност. Група од 125 испитаника подељена је на две мање групе према вредностима *LDL*-холестерола. Подгрупу А су чинили испитаници код којих је вредност овог параметра била ве-

ћа од 5 mmol/l , а подгрупу Б испитаници са вредностима мањим од 5 mmol/l .

Етички комитет КБЦ „Др Драгиша Мишовић” дао је одобрење за извођење истраживања, а сви испитаници дали су свој писани пристанак за укључивање у студију.

Биохемијска мерења

Узорци крви су узимани у јутарњим часовима, 12-14 сати након последњег оброка. Ниво укупног холестерола, *HDL*-холестерола и триглицерида одређивани су ензимским методама помоћу комерцијалних сетова, док је ниво *LDL*-холестерола израчунаван према Фридевалдовој (*Friedewald*) формули, сем када је концентрација триглицерида била већа од $4,5 \text{ mmol/l}$ [29]. *CRP* је мерен хемилуминисцентном методом (*DPC Immulite*). *OxLDL* је одређиван комерцијалним тестом *ELISA* (*Mercodia AB, Uppsala, Sweden*) у *EDTA*, с антиоксидантима бутил-хидрокситолуеном. Узорци плазме складиштени су на -80°C и нису били претходно отопљени. За оксидацију *LDL*-холестерола тестом *ELISA* коришћена су антитела *mAb4E6*. Коефицијент варијације за есеј био је 8%, а опоравак 95%. Две контролне плазме са *OxLDL*, које је обезбедио произвођач, коришћене су као унутрашња контрола у анализи.

Испитивање дебљине интима-медија комплекса

За сваког лекара веома је значајно препознавање особа које су под ризиком да доживе срчани напад или шлог. Данас постоји неколико имидинг-метода које омогућавају откривање атеросклеротског плака у каротидним и коронарним артеријама. *IMT* се мери ултразвуком, неинвазивном методом, применом Б-мода високе резолуције. Ова метода даје информацију о индексу који описује узнапредовалост атеросклеротског процеса. Ултрасонографија је изведена помоћу апарата *Hewlett-Packard Image Point M2410A* ултразвучним системом који је опремљен линеарним одашиљачем зракова од 10 MHz , а снимано помоћу супер *VHS* рикордера *Panasonic AG – MD830E PAL*. Сва ултразвучна испитивања изводио је један специјалиста радиологије. Лонгитудиналне слике из три пројекције (антеролатералне, латералне и постеролатералне) приказане су на дисплеју за заједничку каротидну артерију, булбус и унутрашњу каротидну артерију.

Статистичка анализа

Статистичка обрада података вршена је помоћу *Statistical Package for the Social Sciences Program, version 10 (SPSS)*. Резултати су приказани као средње вредности са стандардном девијацијом (*SD*). Резултати су били статистички значајни уколико је вредност *p* била мања од 0,05. Једносмерна анализа варијансе уз *Tukey posthoc* тест коришћена је да би се прилагодили вредности концентрације *OxLDL* и *CRP* у плазми у обе групе испитаника.

РЕЗУЛТАТИ

Основне одлике испитаника приказане су у табели 1. Није уочена значајна разлика у вредностима параметара између испитаника с повишеним вредностима холестерола и испитаника контролне групе. Преваленција пушача у првој групи није била висока (18%) и није било значајне разлике у навикама када је у питању пушење између две групе. С друге стране, *IMT* је био значајно већи код испитаника с повишеним вредностима холестерола него у контролној групи ($p<0,05$). Као што се може видети из нивоа *OxLDL* ($p<0,01$), укупног холестерола ($p<0,01$), триглицерида ($p<0,01$), *LDL*-холестерола ($p<0,01$), односа нивоа укупног холестерола и *HDL*-холестерола ($p<0,01$), односа нивоа *LDL*-холестерола и *HDL*-холестерола ($p<0,01$) и односа нивоа триглицерида и *HDL*-холестерола ($p<0,01$), вредности су биле значајно веће код испитаника прве групе него код здравих испитаника (Табела 2). Вредности *CRP* такође су биле значајно веће код испитаника с повишеним вредностима холестерола ($p<0,05$). Као што се запажа, код испитаника подгрупе А вредности холестерола, *LDL*-холестерола, односа нивоа холестерола и *LDL*-холестерола, холестерола и *HDL*-холестерола, *LDL* и *HDL* холестерола, те *OxLDL* и *CRP* биле су значајно веће него код испитаника подгрупе Б (Табела 3). И *IMT* је био значајно већи у подгрупи А ($1,25\pm0,26$ mm), него у подгрупи Б ($1,05\pm0,44$ mm) и контролној групи ($0,72\pm0,24$ mm).

Посматрана је и повезаност *IMT* са липидима као факторима ризика (Табела 4). Закључено је да у обе подгрупе (А и Б) испитаника вредност *IMT* позитивно корелира са вредношћу *OxLDL* ($r=0,442$; $p<0,05$), али да је само у подгрупи А вредност *IMT* у позитивној корелацији са вредностима *CRP* ($r=0,792$; $p<0,01$). У контролној групи постоји значајна позитивна корелација између вредности *IMT* и *OxLDL* ($r=0,781$; $p<0,01$), нивоа холестерола ($r=0,470$; $p<0,05$) и триглицерида ($r=0,769$;

Табела 1. Основне одлике испитаника

Table 1. Baseline characteristics of the study groups

Параметар Parameter	Испитаници Study subjects	Контролна група Control group
Број испитаника (жене/мушкарци) number of subjects (female/male)	125 (75/50)	100 (50/50)
Старост (године) Age (years)	49.30±5.76	45.1±8.37
<i>BMI</i> (kg/m ²)	24.27±2.52	24.17±2.28
Бивши пушачи (%) Former smokers (%)	12	8
Тренутно пушачи (%) Current smokers (%)	18	12
Систолни крвни притисак (mm Hg) Systolic blood pressure (mm Hg)	125±18	115±42
Дијастолни крвни притисак (mm Hg) Diastolic blood pressure (mm Hg)	75±32	74±18
<i>IMT</i> (mm)	1.14±0.38*	0.72±0.24

* $p<0,05$ *BMI* – индекс телесне масе; *IMT* – дебљина интима–медија комплекса* $p<0,05$ *BMI* – Body Mass Index; *IMT* – intima–media thicknessТабела 2. Средње вредности биохемијских параметара по групама
Table 2. Mean biochemical values of the groups

Параметар Parameter	Испитаници Study subjects (n=125)	Контролна група Control group (n=100)
Гликемија (mmol/l) Fasting blood glucose (mmol/l)	5.11±0.38*	4.84±0.46
Укупни холестерол (mmol/l) Total cholesterol (mmol/l)	7.10±1.14**	4.98±0.64
<i>HDL</i> -холестерол (mmol/l) HDL cholesterol (mmol/l)	1.18±0.36	1.21±0.29
Триглицериди (mmol/l) Triglycerides (mmol/l)	2.21±1.19**	1.27±0.56
<i>LDL</i> -холестерол (mmol/l) LDL cholesterol (mmol/l)	4.95±1.19**	3.22±0.61
Однос холестерола и <i>HDL</i> -холестерола Cholesterol and HDL cholesterol ratio	6.51±2.07**	4.33±1.15
Однос <i>LDL</i> -холестерола и <i>HDL</i> -холестерола LDL cholesterol and HDL cholesterol ratio	4.57±1.76**	2.82±0.90
Однос триглицерида и <i>HDL</i> -холестерола Triglyceride and HDL cholesterol ratio	2.18±1.66**	1.19±0.70
<i>OxLDL</i> (IU/l)	119.97±43.15**	82.03±25.99
Однос <i>OxLDL</i> и <i>LDL</i> - холестерола (IU/mmol/l) <i>OxLDL</i> and LDL cholesterol ratio (IU/mmol/l)	25.16±9.10	26.27±10.68
<i>CRP</i> (mg/ml)	6.20±3.55*	2.68±3.04

* $p<0,05$; ** $p<0,01$

Табела 3. Средње вредности биохемијских параметара испитаника подгрупа А и Б у поређењу са контролном групом

Table 3. Mean biochemical values of the study subgroup A and B compared to control group

Параметар Parameter	Подгрупа А Subgroup A (n=56)	Подгрупа Б Subgroup B (n=69)
Укупни холестерол (mmol/l) Total cholesterol (mmol/l)	8.14±1.21**	6.48±0.51**
<i>HDL</i> -холестерол (mmol/l) HDL cholesterol (mmol/l)	1.16±0.26	1.25±0.43
Триглицериди (mmol/l) Triglycerides (mmol/l)	2.02±0.69**	2.21±1.18**
<i>LDL</i> -холестерол (mmol/l) LDL cholesterol (mmol/l)	6.05±1.20**	4.32±0.47**
Однос укупног холестерола и <i>HDL</i> -холестерола Total cholesterol and HDL cholesterol ratio	7.34±2.13**	5.75±1.85**
Однос <i>LDL</i> -холестерола и <i>HDL</i> -холестерола LDL cholesterol and HDL cholesterol ratio	5.52±1.94**	3.87±1.42**
Однос триглицерида и <i>HDL</i> -холестерола Triglyceride and HDL cholesterol ratio	1.80±0.70	2.15±1.63**
<i>OxLDL</i> (IU/l)	130.56±46.31**	111.43±38.0**
Однос <i>OxLDL</i> и <i>LDL</i> - холестерола (IU/mmol/l) <i>OxLDL</i> and LDL cholesterol ratio (IU/mmol/l)	22.66±7.95	25.93±9.11
<i>CRP</i> (mg/ml)	6.35±3.12**	6.05±4.05*

* $p<0,05$; ** $p<0,01$

Разлике су статистички значајне у односу на контролну групу (Табела 2).

* $p<0,05$; ** $p<0,01$

Values are statistically significantly different from control group (Table 2).

Табела 4. Корелације између дебљине интима–медија комплекса (*IMT*) и нивоа липида
Table 4. Correlations between intima–media thickness (*IMT*) and level of lipids

Корелације Correlations	Подгрупа А Subgroup A (n=56)		Подгрупа Б Subgroup B (n=69)		Контролна група Control group (n=100)	
	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>	<i>r</i>	<i>p</i>
<i>IMT</i> – <i>CRP</i>	0.792	<0.01			0.748	<0.01
<i>IMT</i> – <i>OxLDL</i>	0.442	<0.05			0.781	<0.01
<i>IMT</i> – холестерол <i>IMT</i> – cholesterol					0.470	<0.05
<i>IMT</i> – триглицериди <i>IMT</i> – triglycerides					0.769	<0.01
Триглицериди – <i>HDL</i> -холестерол Triglycerides – <i>HDL</i> cholesterol					0.765	<0.01

$p < 0,01$), односа нивоа триглицерида и *HDL*-холестерола ($r = 0,765$; $p < 0,01$), као и *CRP* ($r = 0,748$; $p < 0,01$). Резултати такође показују да је каротидни плак, измерен помоћу каротидне ултрасонографије, много чешћи код испитаника с хиперхолестеролемијом. Исто тако, код ових испитаника *IMT* је био у спрези са *CRP*, углавном у подгрупи А. У контролној групи уочена је значајна повезаност вредности *IMT*, *CRP* и *OxLDL*.

ДИСКУСИЈА

Главни циљ истраживања био је да се испитају међусобни односи циркулишућег *OxLDL* и *CRP*, као и њихова повезаност са *IMT* зида каротидне артерије код особа с факторима ризика за атеросклерозу. Резултати су показали да су вредности *OxLDL* и *CRP* значајно веће код испитаника с повишеним вредностима холестерола него код здравих испитаника, који су чинили контролну групу. У подгрупи А, коју су чинили испитаници код којих је ниво *LDL*-холестерола био већи од 5 mmol/l, вредности стандардних липопротеина, *OxLDL* и *CRP* биле су веће него код испитаника подгрупе Б, која је обухватила особе код којих су вредности *LDL*-холестерола биле мање од 5 mmol/l. Како је *LDL*-холестерол супстрат за оксидацију, повезаност између хиперхолестеролемије и повишеног *OxLDL* се и очекивала. Вредности *IMT* су такође биле веће код испитаника подгрупе А. У обе групе испитаника вредност *IMT* је била у позитивној корелацији са нивоом *OxLDL*, док је у подгрупи А вредност *IMT* позитивно корелирала са вредностима *CRP*.

Сви ови резултати уклапају се у концепт да је запаљење главна одредница атеросклерозе [30, 31, 32]. Системски одговор на запаљење доводи до повећања вредности оксидисаних липида у серуму и повећања нивоа *LDL*-холестерола [33, 34, 35]. Циркулишући *OxLDL* повезан је са проинфламаторним маркером, *CRP*, што упућује на параметре развоја атеросклеротског процеса [36, 37]. Ридкер (*Ridker*) и сарадници [38] су проучавали предиктивни значај *CRP* за развој кар-

диоваскуларних обољења, као и вредности *LDL*-холестерола код здравих жена укључених у *Women's Health Study*, које су надгледане осам година. Установили су да су жене с највећим вредностима *CRP* биле два-три пута склоније развоју кардиоваскуларних обољења него жене код којих су вредности *CRP* биле нормалне. Закључили су да је на основу нивоа *CRP* и *LDL*-холестерола могуће идентификовати високоризичне особе, те је неопходно бележење оба ова показатеља, а не само једног [39-40]. Нове студије такође показују да *CRP* боље корелира с вредностима *IMT* каротидне артерије код жена него код мушкараца, као и да у млађој здоровој популацији боље корелира са *IMT* каротидне артерије, него са *OxLDL* [41, 42].

Повећан *IMT* каротидне артерије је веома значајан показатељ настанка ране атеросклерозе [43-47]. Скорашње студије су објавиле да су код особа без доказа о кардиоваскуларној болести, али са повећаним вредностима *IMT*, повишени нивои *OxLDL*, који су у позитивној корелацији са *IMT*, што указује на то да је *OxLDL* такође показатељ ране атеросклерозе [48-50]. Ова испитивања потврђују налазе да *OxLDL* значајно корелира с развојем кардиоваскуларних болести и вредностима *IMT*. Вероватно је да управо *OxLDL* одсликава степен и напредовање атеросклеротског процеса. Резултати нашег истраживања су показали и да високи нивои циркулишућег *OxLDL* могу бити у интеракцији са запаљењским одговором. Ипак, потребно је обавити још испитивања на ову тему, јер постоје и други фактори, осим оних који су набројани, који су веома значајни и као показатељи и као супстрати у процесу развоја атеросклерозе.

ЗАКЉУЧАК

Код особа с факторима ризика за атеросклерозу и повишеним нивоима холестерола повећане вредности циркулишућег *OxLDL* и *CRP* повезане су са већом дебљином интима–медија комплекса каротидне артерије.

ЛИТЕРАТУРА

- Wilson W. Established risk factors and coronary artery disease; the Framingham study. *Am J Hypertens*. 1994;7:75-125.
- Steinberg D, Lewis A. Conner memorial lecture. Oxidative modification of LDL and atherogenesis. *Circulation*. 1997; 95(4):1062-71.
- Steinberg D, Witztum JL. Is the oxidative modification hypothesis relevant to human atherosclerosis? Do the antioxidant trials conducted to date refute the hypothesis? *Circulation*. 2002; 105:2107-11.
- Witztum JL. The oxidation hypothesis of atherosclerosis. *Lancet*. 1994;344:793-5.
- Steinberg D, Parthasarathy S, Carew TE, Khoo JC, Witztum JL. Beyond cholesterol: modifications of low-density lipoprotein that increase its atherogenicity. *N Engl J Med*. 1989; 320(14):915-24.
- Itabe H. Oxidized low-density lipoproteins: what is understood and what remains to be clarified. *Biol Pharm Bull*. 2003;26:1-9.
- Mertens A, Holvoet P. Oxidized LDL and HDL: antagonists in atherothrombosis. *FASEB J*. 2001;15:2073-84.
- Witztum J. To E or not to E – how do we tell? *Circulation*. 1998; 98:2785-7.
- Andican G, Seven A, Uncu M, Candaşdemir M, Numan F, Burçak G. Oxidized LDL and anti-oxLDL antibody levels in peripheral atherosclerotic disease. *Scand J Clin Lab Invest*. 2008;68(6):473-8.
- Ishigaki Y, Katagiri H, Gao J, Yamada T, Imai J, Uno K, et al. Impact of plasma oxidized low-density lipoprotein removal on atherosclerosis. *Circulation*. 2008;118(1):75-83.
- Matsuura E, Hughes GR, Khamashta MA. Oxidation of LDL and its clinical implication. *Autoimmun Rev*. 2008;7(7):558-66.
- Ridker P, Cushman M, Stampfer M, Tracy RP, Hennekens CH. Inflammation, aspirin, and the risk of cardiovascular disease in apparently healthy men. *N Eng J Med*. 1997;336(14):973-9.
- Glass CK, Witztum JL. Atherosclerosis: the road ahead. *Cell*. 2001; 104:503-16.
- Ylä-Herttua S, Palinski W, Rosenfeld ME, Parthasarathy S, Carew TE, Butler S, et al. Evidence for the presence of oxidatively modified low density lipoprotein in atherosclerotic lesions of rabbit and man. *J Clin Invest*. 1989;84(4):1086-95.
- Stemme S, Faber B, Holm J, Wiklund O, Witztum JL, Hansson GK. T lymphocytes from human atherosclerotic plaques recognize oxidized low density lipoprotein. *Proc Natl Acad Sci USA*. 1995; 92(9):3893-7.
- Pasceri V, Willerson JT, Yeh ET. Direct proinflammatory effect of C-reactive protein on human endothelial cells. *Circulation*. 2000; 102:2165-8.
- Zwaka TP, Hombach V, Torzewski J. C-reactive protein-mediated low density lipoprotein uptake by macrophage: implication for atherosclerosis. *Circulation*. 2001;10:1194-7.
- Blaschke F, Bruemmer D, Yin F, Takata Y, Wang W, Fishbein MC, et al. C-reactive protein induces apoptosis in human coronary vascular smooth muscle cells. *Circulation*. 2004;110(5):579-87.
- Holvoet P, Vanhaecke J, Janssens S, Van de Werf F, Collen D. Oxidized LDL and malondialdehyde-modified LDL in patients with acute coronary syndromes and stable coronary artery disease. *Circulation*. 1998;98:1487-94.
- Chouinard JA, Grenier G, Khalil A, Vermette P. Oxidized-LDL induce morphological changes and increase stiffness of endothelial cells. *Exp Cell Res*. 2008;314(16):3007-16.
- Holvoet P, Mertens A, Verhamme P, Bogaerts K, Beyens G, Verhaeghe R, et al. Circulating oxidized LDL is a useful marker for identifying patients with coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2001;21(5):844-8.
- Toshima S, Hasegawa A, Kurabayashi M, Itabe H, Takano T, Sugano J, et al. Circulating oxidized low density lipoprotein levels: a biochemical risk marker for coronary heart disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20(10):2243-7.
- Holvoet P, Stassen JM, Van Cleemput J, Collen D, Vanhaecke J. Oxidized low density lipoproteins in patients with transplant-associated coronary artery disease. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18:100-7.
- Meisinger C, Baumert J, Khuseynova N, Loewel H, Koenig W. Plasma oxidized low-density lipoprotein, a strong predictor for acute coronary heart disease events in apparently healthy, middle-aged men from the general population. *Circulation*. 2005;112(5):651-7.
- Čaparević Z, Kostić N, Ilić S, Stojanović D, Ivanović AM. Oxidized LDL and C-reactive protein as markers for detection of accelerated atherosclerosis in type 2 diabetes. *Med Pregl*. 2006;59(3-4):160-4.
- Zamaklar M, Lalić K, Rajković N, Trifunović D, Dragasević M, Popović L, et al. Oxidized LDL and lipids as risk factors for ischemic heart disease in type 2 diabetes. *Vojnosanit Pregl*. 2005;62(7-8):529-36.
- Ehara S, Ueda M, Naruko T, Haze K, Itoh A, Otsuka M, et al. Elevated levels of oxidized low density lipoprotein show a positive relationship with the severity of acute coronary syndromes. *Circulation*. 2001;103(15):1955-60.
- Shimada K, Mokuno H, Matsunaga E, Miyazaki T, Sumiyoshi K, Miyauchi K, et al. Circulating oxidized low-density lipoprotein is an independent predictor for cardiac event in patients with coronary artery disease. *Atherosclerosis*. 2004;174(2):343-7.
- Friedewald WT, Levy RI, Fredrickson DS. Estimation of the concentration of low-density lipoprotein cholesterol in plasma, without use of the preparative ultracentrifuge. *Clin Chem*. 1972;18:499-502.
- Ross R. Atherosclerosis – an inflammatory disease. *N Engl J Med*. 1999;14(340):115-268.
- Libby P, Ridker PM, Maseri A. Inflammation and atherosclerosis. *Circulation*. 2002;105:1135-43.
- Holvoet P. Relations between metabolic syndrome, oxidative stress and inflammation and cardiovascular disease. *Verh K Acad Geneesk Belg*. 2008;70(3):193-219.
- Memon RA, Staprans I, Noor M, Holleran WM, Uchida Y, Moser AH, et al. Infection and inflammation induce LDL oxidation in vivo. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 2000;20:1536-42.
- Berliner JA, Navab M, Fogelman AM, Frank JS, Demer LL, Edwards PA, et al. Atherosclerosis basic mechanisms: oxidation, inflammation, and genetics. *Circulation*. 1995;91(9):2488-96.
- Tsimikas S. In vivo markers of oxidative stress and therapeutic interventions. *Am J Cardiol*. 2008;101(10A):34D-42D.
- Torzewski J, Torzewski M, Bowyer DE, Fröhlich M, Koenig W, Waltenberger J, et al. C-reactive protein frequently colocalizes with the terminal complement complex in the intima of early atherosclerotic lesions of human coronary arteries. *Arterioscler Thromb Vasc Biol*. 1998;18(9):1386-92.
- Tabuchi M, Inoue K, Usui-Kataoka H, Kobayashi K, Teramoto M, Takasugi K, et al. The association of C-reactive protein with an oxidative metabolite of LDL and its implication in atherosclerosis. *J Lipid Res*. 2007;48(4):768-81.
- Ridker PM, Rifai N, Rose L, Buring JE, Cook NR. Comparison of C-reactive protein and low-density lipoprotein cholesterol levels in the prediction of first cardiovascular events. *N Eng J Med*. 2002; 347(20):1557-65.
- Ridker PM, Silvertown JD. Inflammation, C-reactive protein, and atherothrombosis. *J Periodontol*. 2008;79(8 Suppl):1544-51.
- Takahashi W, Ohnuki T, Ohnuki Y, Kawada S, Takagi S. The role of high-sensitivity C-reactive protein in asymptomatic intra- and extracranial large artery diseases. *Cerebrovasc Dis*. 2008; 26(5):549-55.
- Sander K, Horn CS, Briesenick C, Sander D; INVADE Study Group. High-sensitivity C-reactive protein is independently associated with early carotid artery progression in women but not in men: the INVADE Study. *Stroke*. 2007;38(11):2881-6.
- Kampus P, Kals J, Ristimäe T, Muda P, Ulst K, Zilmer K, et al. Augmentation index and carotid intima-media thickness are differently related to age, C-reactive protein and oxidized low-density lipoprotein. *J Hypertens*. 2007;25(4):819-25.
- O'Leary DH, Polak JF, Kronmal RA, Manolio TA, Burke GL, Wolfson SK Jr. Carotid-artery intima and media thickness as a risk factor for myocardial infarction and stroke in older adults: Cardiovascular Health Study Collaborative Research Group. *N Engl J Med*. 1999;340(1):14-22.
- Giral P, Bruckert E, Dairou F, Boubrit K, Drobinski G, Chapman JM, et al. Usefulness in predicting coronary artery disease by ultrasonic evaluation of the carotid arteries in asymptomatic hypercholesterolemic patients with positive exercise stress tests. *Am J Cardiol*. 1999;84(1):14-7.
- Hulthe J, Wikstrand J, Emanuelsson H, Wiklund O, de Feyter PJ, Wendelhag I. Atherosclerotic changes in the carotid artery bulb as measured by B-mode ultrasound are associated with the extent of coronary atherosclerosis. *Stroke*. 1997;28:1189-94.
- Salonen JT, Nyyssönen K, Salonen R, Porkkala-Sarataho E, Tuomainen TP, Diczfalusi U, et al. Lipoprotein oxidation and progression of carotid atherosclerosis. *Circulation*. 1997; 95(4):840-5.
- Krupinski J, Font A, Luque A, Turu M, Slevin M. Angiogenesis and inflammation in carotid atherosclerosis. *Front Biosci*. 2008;

- 13:6472-82.
48. Hulthe J, Fagerberg B. Circulating oxidized LDL is associated with subclinical atherosclerosis development and inflammatory cytokines (AIR study). *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2002; 22:1162-7.
 49. Liu ML, Ylitalo K, Salonen R, Salonen JT, Taskinen M-R. Circulating oxidized low-density lipoprotein and its association with carotid intima-media thickness in asymptomatic members of familial combined hyperlipidemia families. *Arterioscler Thromb Vasc Biol.* 2004;24(8):1492-7.
 50. Chen HW, Kuo CL, Huang CS, Kuo SJ, Liu CS. Oxidized low-density lipoproteins, autoantibodies against oxidized low-density lipoproteins and carotid intima media thickness in a clinically healthy population. *Cardiology.* 2008;110(4):252-9.

Oxidized LDL and C-Reactive Protein Level in Relation to Carotid Intima-Media Thickness in Population with Risk Factors for Atherosclerosis

Zorica Čaparević¹, Nada Kostić¹, Sanja Ilić¹, Jana Radojković¹, Djordje Marina¹, Biljana Penčić², Ivan Radojković³

¹Endocrinology Unit, Clinical Centre "Dr Dragiša Mišović", Belgrade, Serbia;

²Cardiology Unit, Clinical Centre "Dr Dragiša Mišović", Belgrade, Serbia;

³Clinical Centre "Zemun", Belgrade, Serbia

SUMMARY

Introduction Elevated levels of oxidized LDL cholesterol (OxLDL) are considered to be a key factor of initiating and accelerating atherosclerosis. It promotes atherosclerosis through inflammatory and immunologic mechanisms that lead to the formation of macrophage foam cells.

Objective To determine the relationship among OxLDL, C-reactive protein (CRP) level and carotid intima-media thickness (IMT) in population with risk factors for atherosclerosis.

Methods The study group consisted of 125 clinically healthy, hypercholesterolaemic subjects (49.3±5.7 years; 75 females and 50 males) compared with 100 age-matched population-based control subjects. The study group was divided into two subgroups: subgroup A (the levels of LDL cholesterol > 5 mmol/L) and subgroup B (the levels of LDL cholesterol <5 mmol/L). None of the subjects had history of cerebrovascular, ischaemic heart disease, hypertension or diabetes mellitus. Lipid profiles were measured by enzymatic methods. OxLDL was measured by using a specific monoclonal antibody,

mAb4E6. CRP was measured using hemiluminescent methods (Immulite - DPC). The common carotid IMT was measured by the B-mode ultrasound.

Results Compared to controls, the study group had higher levels of OxLDL (119.97±43.15 vs. 82.03±25.99 IU/L; $p<0.01$) and CRP (6.20±3.55 vs. 2.68±3.04 mg/ml; $p<0.05$). IMT was significantly higher in study subjects (1.14±0.38 vs. 0.72±0.24 mm; $p<0.05$). We also found that, in the whole study group, IMT significantly positively correlated with OxLDL ($r=0.442$; $p<0.05$). We found that in the study subgroup A, IMT positively correlated with CRP ($r=0.792$; $p<0.01$). In controls, we found a significantly positive association between IMT and OxLDL ($r=0.781$; $p<0.01$) and CRP ($r=0.748$; $p<0.01$).

Conclusion The elevated levels of OxLDL and CRP are associated with higher common carotid intima-media thickness in population with risk factors for atherosclerosis.

Keywords: oxidized LDL cholesterol (OxLDL); C-reactive protein (CRP); carotid intima-media thickness; risk factors; atherosclerosis